Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 4, Oct.-Nov. 2023, p. 399-414

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۲ ص. ۴۱۴-۳۹۹



Research Article
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir



Evaluation of Oxidation Development of Soybean Oil Enriched with Essential Oil from Aerial Parts of *Ferulago angulata* Boiss during Accelerated Storage

A. Hemmati[1], A. Ganjloo[2*], K. Varmira[3], M. Bimakr[4]

Received: 2021.04.19
Revised: 2021.07.29
Accepted: 2021.08.28
Available Online: 2021.09.15

How to cite this article:
Hemmati, A., Ganjloo, A., Varmira, K., & Bimakr, M. (2023). Evaluation of oxidation development of soybean oil enriched with essential oil from aerial parts of *Ferulago angulata* Boiss during accelerated storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *19*(4), 399-414. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.69813.1033

Introduction

It is believed that edible oils and fats with high levels of unsaturated fatty acids are susceptible to oxidation. Soybean oil as one of the four important edible oils has high content of polyunsaturated fatty acids and so prone to oxidation. Generally, lipid oxidation leads to deterioration of nutritional quality and organoleptic properties of edible oils and fats as well as accelerate the development or progression of cancer, mutagenesis, carcinogenesis, aging and cardiovascular diseases through the formation of free radicals. Therefore, edible oils and fats fortification with antioxidant compounds in order to protect them against oxidation is essential. In recent years, numerous studies were carried out on exploration of natural and safe antioxidant compounds due to the consumers concerns about potential health risk of synthetic antioxidants, such as butylatedhydroxyanisole (BHA), butylatedhydroxytolene (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ) and propylgallate (PG). In this regard, TBHQ as the most powerful synthetic antioxidant is prohibited as food additive in Japan, Canada and Europe. *Ferulago angulata* Boiss which called chavir or chavil belongs to the family of Apiacea consisting of 35–40 species that 8 species grow in Iran. It was reported that *Ferulago* species are used in folk medicine for their tonic, digestive, sedative, aphrodisiac properties from ancient times. Therefore, in the current study, the oxidation development of soybean oil enriched with *F. angulata* essential oil (EO) during accelerated storage was investigated.

Materials and Methods

EO from freeze dried aerial parts of *F. angulata* was extracted through hydrodistillation using Clevenger type apparatus. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to identify main components of the EO. Total phenolic and flavonoid content of the EO were assessed using Folin–Ciocalteu and aluminium chloride colorimetry methods, respectively. Antioxidant activity of EO was measured through 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and reducing power (RP) tests. Then, the EO of *F. angulata* at three concentrations, i.e. 200 ppm (SO-200), 400 ppm (SO-400), and SO-Mixture (100 ppm TBHQ + 100 ppm EO) were added to soybean oil. The synthetic antioxidant of TBHQ at the concentration of 200 ppm was added as control. The effect of EO from freeze dried aerial parts of *F. angulata* on oxidative stability of soybean oil stored under accelerated conditions at 65 ºC for 24 days was evaluated through acidity, peroxide (*PV*), *p*-anisidine (*p-An*) and TOTOX values.

Results and Discussion

1, 2 and 4- M.Sc of Food Technology and Associate Professors, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: aganjloo@znu.ac.ir)
3- Associate Professor, Research Center of Oils and Fats, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
DOI: 10.22067/ifstrj.2021.69813.1033

Extraction yield, total phenolic and flavonoid contents of EO of *F. angulata* were 2.5% *v/w*, 188 mg GAE/g and 70.90 mg QE/g respectively. Furthermore, DPPH free radical scavenging activity and RP were 55.45-13.21% and 3.61-2.72 in the concentration range of 1.6-4.6 mg/ml of EO, respectively. Based on GC-MS analysis, the EO contains 41 natural compounds, representing 96.97% of the total EO. *F. angulata* EO could effectively reduce the acidity, *PV* and *p-An* values. For control sample, the maximum values of acidity, PV peroxide, *p-An* and TOTOX were 1.52 mg KOH/g, 10.60 meq O_2/kg, 12.48 and 33.68 respectively after 24 days under accelerated conditions. While these values were 0.085 mg KOH/g, 4.5 meq O_2/kg, 9.16 and 18.16 respectively for the soybean oil containing the lowest concentration of EO of *F. angulata*.

Conclusion

The results confirmed the instability of soybean oil during storage as well as the ability of EO from *F. angulata* for soybean oil protection against oxidation. As a result, EO from aerial parts of *F. angulata* could be suggested as a natural and effective antioxidant to be used instead of TBHQ as a synthetic antioxidant for soybean oil stabilization.

Keywords: Accelerated storage, Essential oil, *Ferulago angulata*, Oxidation stability, Soybean oil

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 3, Oct.-Nove. 2023, p. 399-414

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۲ ص. ۴۱۴-۳۹۹

مقاله پژوهشی

ارزیابی پیشرفت اکسایش روغن سویا غنی شده با اسانس اندام هوایی چویر حین انبارش تسریع شده

علیرضا همتی[۱]- علی گنجلو[۲]*- کامبیز ورمیرا[۳]- ماندانا بی مکر[٤]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

چکیده

روغن‌های گیاهی خصوصا روغن سویا به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع مستعد به فساد اکسایشی هستند. در سالیان اخیر استفاده از ضد اکساینده‌های طبیعی به دلیل اثرات منفی ضد اکساینده‌های مصنوعی مورد توجه قرار گرفته است. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثربخشی اسانس اندام هوایی چویر بر پایداری اکسایشی روغن سویا صورت پذیرفت. بدین منظور اندام هوایی چویر به روش انجمادی خشک و اسانس به روش تقطیر آبی استخراج شد. میزان بازده استخراج (۲/۵ درصد حجمی/وزنی)، محتوای ترکیبات فنولی کل (۱۸۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم)، فلاونوئیدی کل (۷۰/۹۰ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم)، فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (۲۱/۱۳-۵۵/۴۵ درصد) و قدرت احیاء کنندگی (۲/۷۲-۳/۶۱) برای اسانس چویر اندازه‌گیری شدند. در ادامه، پیشرفت اکسایش روغن سویا غنی شده با ۲۰۰، ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی و مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ (۱۰۰ پی‌پی‌ام+۱۰۰پی‌پی‌ام) طی ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس از طریق سنجش شاخص‌های پایداری اکسایش بررسی و با ضد اکساینده سنتزی TBHQ مقایسه گردید. در پایان دوره نگهداری اعداد اسیدی، پراکسید، پارا-آنیزیدین و توتوکس برای نمونه کنترل به‌ترتیب معادل ۱/۵۲ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم، ۱۰/۶۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم، ۱۲/۴۸ و ۳۳/۶۸ به‌دست آمد. با افزودن اسانس اندام هوایی چویر با حداقل غلظت مقادیر این اعداد ۰/۰۸۵ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم، ۴/۵۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم، ۹/۱۶ و ۱۸/۱۶ بود که در مقایسه با ضد اکساینده سنتزی TBHQ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی به خوبی می‌تواند پیشرفت اکسایش روغن سویا را به تاخیر بیاندازد. لذا از آن می‌توان به‌عنوان جایگزین طبیعی ضد اکساینده سنتزی TBHQ استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، انبارش تسریع شده، پایداری اکسایشی، چویر، روغن سویا

مقدمه

روغن‌های گیاهی به‌عنوان یکی از ترکیبات ارزشمند غذایی به لحاظ تامین انرژی و نقش آنها در سلامتی انسان‌ها به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع حساسیت زیادی به فساد اکسیداتیو حین نگهداری و یا فرایند حرارتی دارند (Chen *et al.*, 2014). اکسایش روغن‌ها علاوه بر ایجاد بد طعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای، منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌گردد که می‌توانند به مولکول‌های زیستی بدن حمله نمایند (Nyam *et al.*, 2013) و با ایجاد آسیب سبب بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان، تصلب شرائین، دیابت و پیری زودرس گردند (Kanner *et al.*, 2012). در

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی و دانشیاران گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: aganjloo@znu.ac.ir
۳- دانشیار مرکز تحقیقات روغن‌ها و چربی‌ها، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

DOI: 10.22067/ifstrj.2021.69813.1033

نتیجه اکسایش سبب کاهش مقبولیت روغن‌های گیاهی نزد مصرف کننده می‌گردد که این امر ضرر اقتصادی برای تولید کنندگان به همراه خواهد داشت (Iqbal and Bhanger, 2007). روغن سویا به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین روغن‌های خوراکی حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک اسید و لینولنیک اسید بوده و از این قایده مستثنی نیست (Kozłowska and Gruczyńska, 2018). ترکیبات ضد اکساینده می‌توانند با به تاخیر انداختن یا ممانعت از پیشرفت اکسایش روغن‌های گیاهی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد راه حلی برای این مشکل باشند (Yim *et al*., 2013).

در سالیان اخیر به دلیل اثبات عوارض نامطلوب ترکیبات ضد اکساینده سنتزی (بوتیلات هیدروکسی آنیزول[1]، بوتیلات هیدروکسی تولوئن[2]، ترشیو بوتیل هیدروکینون[3] و پروپیل گالات[4]) نظیر احتمال سرطان‌زایی و آسیب‌های کبدی، استفاده از ترکیبات ضد اکساینده طبیعی به‌منظور پایدارسازی روغن‌های گیاهی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Siddhuraju and Becker, 2003; Jeong *et al*., 2004). عصاره‌های گیاهی که عمدتا حاوی ترکیبات زیست فعال نظیر ترکیبات فنولی با توانایی مهار رادیکال‌های آزاد هستند گزینه مناسبی جهت جایگزینی ترکیبات ضد اکساینده سنتزی می‌باشند (Pedraza-Chaverri *et al*., 2008). اسانس‌ها علاوه بر اینکه عامل ایجاد عطر و طعم هستند حاوی ترکیبات شیمیایی گیاهی نظیر هیدروکربن‌های منوترپنی، سزکوئی ترپن‌ها[5] و ترپن‌های اکسیژن‌دار هستند که از خود فعالیت ضد اکسایشی بروز می‌دهند (Sadeghi *et al*., 2016).

در سالیان اخیر پژوهش‌هایی با هدف استفاده از اسانس‌ها که مهم‌ترین روغن‌های فرار استخراجی از گیاهان محسوب می‌شوند به‌عنوان ترکیبات ضد اکساینده طبیعی در روغن‌های گیاهی نظیر روغن آفتابگردان و سویا انجام شده است. در این راستا اقبالیان راد و همکاران (Eghbalian Rad *et al*., 2018) دریافتند که اسانس آویشن دنایی می‌تواند جایگزین مناسبی برای ضد اکساینده سنتزی BHT برای افزایش پایداری حرارتی روغن سویا حین سرخ کردن باشد (Eghbalian Rad *et al*., 2018). قزل سفلو و سیدالنگی (Ghezelsoflo and Sayyed-Alangi, 2017) با بررسی اثر اسانس برگ کرفس کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سویا دریافتند که غلظت ۱۰۰ پی پی ام از این اسانس به خوبی می‌تواند اکسایش روغن سویا را کنترل نماید (Ghezelsoflo and Sayyed-Alangi, 2017). کشوری فرد و همکاران (Keshvari Fard *et al*., 2020) تاثیر به‌کارگیری اسانس نعناع فلفلی را بر پایداری اکسایشی روغن سویا مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که افزودن اسانس نعناع فلفلی با غلظت ۸۷۱ پی‌پی‌ام به‌عنوان یک ضد اکساینده طبیعی می‌تواند ویژگی‌های کیفی روغن سویا را طی دوره انبارمانی ۴۵ روزه بهبود بخشد (Keshvari Fard *et al*., 2020). لذا یافتن منابع طبیعی جدید و غنی از ترکیبات زیست فعال و امکان‌سنجی استفاده از آنها به منظور بهبود ویژگی‌های کیفی مواد غذایی نظیر روغن‌های گیاهی ضروری به نظر می رسد.

چویر با نام علمی *Ferulago angulata (Schlecht.)* Boiss.، گیاهی علفی، معطر، چند ساله و متعلق به خانواده چتریان[6] است (Mozafarian, 1983). این گیاه متشکل از ۴۰-۳۵ گونه است که ۸ گونه از آن در ایران (خصوصا استان‌های ایلام، کردستان، کرمانشاه و لرستان) رشد می‌کند (Mozafarian, 2008). خصوصیات ضد اکسایشی (Ghasemi Pirbalouti *et al*., 2013; Mollaei *et al*., 2019)، ضد میکروبی و ضد باکتریایی (Taran and Ghasempour, 2010; Moghaddam *et al*., 2018)این گیاه به اثبات رسیده است. از اسانس اندام هوایی چویر به‌عنوان یک ماده معطر و نگهدارنده قوی در محصولات لبنی و روغن حیوانی استفاده می‌شود (Azarbani *et al*., 2014). صادقی و همکاران (Sadeghi *et al*., 2016) در پژوهشی به بررسی تاثیر اسانس چویر خشک شده در دمای محیط بر پایداری روغن سویا پرداختند. در این پژوهش مقدار بازده استخراج اسانس از اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط ۰/۵ درصد وزنی/وزنی به دست آمد و Cis-Ocimene (۳۰/۱۷ درصد)، α-Pinene (۱۵/۴ درصد)، Trans-β-Ocimene (۵/۷ درصد)، γ-Terpinene (۵/۵۷ درصد)، Germacrene-D (۵/۰۳ درصد)، Limonene (۴/۸۸ درصد)، Bomyle Acetate (۴/۵۷ درصد)، Myrcene (۳/۶۲ درصد)، Camphene (۲/۴۱ درصد)، Noe–Allo-Ocimene (۱/۸۷ درصد)، β–Phellandrene (۱/۸۴ درصد)، α-Terpinolene (۱/۷ درصد)، Bicyclogermacrene (۱/۲۹ درصد) و δ-Cadinene (۱/۱۸ درصد) ترکیبات شیمیایی غالب بودند. به علاوه آنها دریافتند مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ (غلظت۶۰+۶۰ پی‌پی‌ام) و پس از آن اسانس چویر با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام بیشترین تاثیر را بر پایداری روغن سویا طی دوره انبارمانی داشتند (Sadeghi *et al*., 2016). مکان جغرافیایی رویش، شرایط کاشت، داشت و برداشت، روش خشک کردن، روش استخراج اسانس از جمله عواملی بشمار می‌روند که بر مقدار اسانس، ترکیب شیمیایی و در نتیجه کارآیی اسانس تاثیرگذار می‌باشد (Hassanpour aghdam *et al*., 2010). طبق بررسی منابع صورت پذیرفته تاکنون مطالعه‌ای پیرامون بکارگیری روش

1- Butylated hydroxyanisole (BHA)
2- Butylated hydroxytoluene (BHT)
3- Tert-Butylhydroquinone (TBHQ)
4- Propyl gallate (PG)
5- Sesquiterpenes
6- Apiaceae

خشک کردن انجمادی به‌منظور آماده‌سازی اندام هوایی گیاه چویر جهت استخراج اسانس و امکان‌سنجی استفاده از آن با هدف افزایش پایداری اکسایشی روغن‌های گیاهی انجام نشده است. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تاثیر اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی بر پیشرفت اکسایش روغن سویا حین انبارش تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس و مقایسه آن با اثر ضد اکساینده سنتزی TBHQ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

اندام هوایی گیاه چویر در مرحله گل‌دهی (خرداد- تیر) از کوه‌های شهرستان دالاهو در استان کرمانشاه (۳۴ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی، ۴۶ درجه و ۱۴ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۶۵۸ متر از سطح دریا) جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه با آب مقطر شسته شد. روغن سویا تصفیه شده و فاقد هرگونه افزودنی و ترکیب ضد اکسایشی از کارخانه نازگل کرمانشاه تهیه شد. حلال‌ها و مواد شیمیایی با بالاترین درجه خلوص به ترتیب از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما- آلدریچ آمریکا تهیه شدند.

خشک کردن اندام هوایی چویر

به‌منظور منجمد شدن آب آزاد، اندام هوایی چویر به مدت ۲۴ ساعت در دمای منفی ۱۸ درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (CHRIST, Alpha 2-4 LD Plus, Germany) به مدت ۲۴ ساعت و در دمای منفی ۸۰ درجه سلسیوس و با فشار خلأ برابر ۰/۰۷۵ بار تا رسیدن به محتوای رطوبت نهایی معادل ۰/۲±۸/۵ درصد بر پایه وزن تر خشک شد. سپس با استفاده از یک آسیاب خانگی (GOSONIC, Shenzhen, China) پودر شده و به منظور حذف ذرات با اندازه بزرگ و دستیابی به پودری یکنواخت از الک با مش استاندارد ۱۸ (Damavand Test Sieve LTD., Iran) گذرانده و درون کیسه‌های مقاوم به هوا و رطوبت بسته بندی و در دمای منفی ۱۸ درجه سلسیوس تا زمان استخراج اسانس نگهداری شد (Hemmati *et al*., 2021).

استخراج اسانس اندام هوایی چویر به روش تقطیر با آب

استخراج اسانس از پودر خشک اندام هوایی چویر به روش تقطیر با آب[1] در دستگاه کلونجر با رعایت نسبت ۱ به ۱۲ (وزنی/حجمی) به مدت ۳ ساعت انجام شد. آب‌گیری از اسانس به دست آمده با استفاده از سدیم سولفات بدون آب (Na_2SO_4) صورت پذیرفت. اسانس‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای منفی ۴ درجه سلسیوس و درون ظروف شیشه‌ای تیره دربسته نگهداری گردید (Ghasempour *et al*., 2007).

شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی چویر

برای شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی چویر از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل 7890B مجهز به آشکارساز طیف‌سنج جرمی مدل 5977A ساخت شرکت Agilent آمریکا و ستون HP5-MS به طول ۶۰ متر و با قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی ستون با دمای اولیه ۶۰ درجه سلسیوس شروع و به مدت ۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد، سپس دمای ستون با شیب ۱۵ درجه سلسیوس بر دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۲ دقیقه در این دما ثابت ماند و در نهایت با شیب ۲۰ درجه سلسیوس بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت ماند. از گاز هلیوم با درجه خلوص بالا به عنوان گاز حامل استفاده شد. انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات شیمیایی بر اساس مقایسه شاخص بازداری ترکیبات شیمیایی با شاخص‌های موجود در کتابخانه‌های جرمی[2] نظیر NIST[3] و (ChemStation data system) WILEY، مراجع علمی معتبر و همچنین طیف نرمال آلکان‌های تزریق شده در شرایط مشابه انجام شد. درصد نسبی هر یک از اجزای تشکیل دهنده اسانس بر اساس سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های به‌دست آمده در مقایسه با سطح کل زیر منحنی محاسبه گردید (Shahbazi *et al*., 2015).

تعیین محتوای ترکیبات فنولی کل (TPC[4])

محتوای ترکیبات فنولی کل اسانس اندام هوایی چویر به روش رنگ‌سنجی و بر اساس واکنش معرف فولین با گروه‌های هیدروکسی فعال موجود در ترکیبات فنولی ارزیابی شد. بدین منظور ۲۰۰ میکرولیتر از اسانس با ۸۰۰ میکرولیتر از شناساگر فولین- سیکالتیو[5] (که قبلاً با نسبت یک به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق‌شده است) مخلوط شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد (وزنی-حجمی) حجم مخلوط با استفاده از آب مقطر به ۷ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از دو ساعت نگهداری مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک، میزان جذب در

1- Hydrodistillation
2- MS library
3- National Institute of Standards and Technology
4- Total phenolic content
5- Folin–Ciocalteu

طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش–نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت گردید (Singleton and Rossi, 1965). محتوای ترکیبات فنولی کل اسانس با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم اسانس بیان شد.

تعیین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل (TFC[1])

برای تعیین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل اسانس اندام هوایی چویر از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. بدین منظور ۲۵۰ میکرولیتر اسانس با ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد مخلوط و پس از شش دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر سود یک مولار به مخلوط اضافه و حجم محلول به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش–نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد (Jia *et al*., 1999). محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم اسانس بیان گردید.

سنجش قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد ۱،۱- دی فنیل-۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH[2])

به‌منظور سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH ابتدا ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (۱/۶، ۳/۲ و ۶/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به خوبی با ۲ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک قرار گرفت و میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش–نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. توانایی میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بر حسب درصد از طریق رابطه ۱ محاسبه گردید (Xie *et al*., 2012). قدرت مهار رادیکال‌های آزاد بر اساس IC_{50} یا همان توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین گردید. لازم به ذکر است که هر چه مقدار IC_{50} کمتر باشد فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد.

رابطه ۱ $\text{مهار رادیکال‌های آزاد DPPH}\ (\%) = \frac{1-(A_2-A_1)}{A_0} \times 100$

در این رابطه A_0، A_1 و A_2 به ترتیب نشان‌دهنده میزان جذب محلول DPPH به تنهایی، میزان جذب اسانس به تنهایی و میزان جذب محلول DPPH و اسانس می‌باشد.

سنجش میزان قدرت احیاء کنندگی (RP[3])

به‌منظور اندازه‌گیری میزان قدرت احیاء کنندگی اسانس اندام هوایی چویر، ۳ میلی‌لیتر از نمونه اسانس با ۲ میلی‌لیتر از بافر پتاسیم فسفات (۰/۲ مولار، pH ۶/۶) و ۲ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱/۰ درصد وزنی–حجمی) مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس گرم‌خانه گذاری گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰ درصد وزنی–حجمی) به آن اضافه شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با ۰/۴ میلی‌لیتر فریک کلراید (۰/۱ درصد وزنی – حجمی) و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در محیط تاریک، میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش–نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. میزان جذب بالاتر نشان‌دهنده میزان بالاتری از قدرت احیاء کنندگی است (Oyaizu, 1986).

ارزیابی تأثیر اسانس چویر بر پیشرفت اکسایش روغن سویا حین انبارش تحت شرایط تسریع شده

اسانس اندام هوایی چویر در دو غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام (so-200) و ۴۰۰ پی‌پی‌ام (so-400) و ضد اکساینده سنتزی TBHQ به میزان ۲۰۰ پی‌پی‌ام (so-TBHQ) به‌طور مجزا به روغن سویا تصفیه شده، بدون هیچ‌گونه ترکیب ضد اکساینده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس افزوده شد. روغن سویا بدون افزودنی به‌عنوان نمونه کنترل و نمونه حاوی ۱۰۰ پی پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ (so-MIX) جهت بررسی اثرات سینرژیستی و یا آنتاگونیستی دو ضد اکساینده مورد استفاده در نظر گرفته شد. تیمارهای مورد مطالعه در جدول ۱ شرح داده شده است. پس از اینکه روغن سویا با ضد اکساینده‌های مد نظر به‌خوبی مخلوط شد درون بطری‌های ۵۰۰ سی‌سی دربسته پر شد و در آون (K.J 85, Pars Azma, Iran) با دمای ۶۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ روز (هر یک روز نگهداری روغن در این دما معادل با یک ماه نگهداری در شرایط محیطی عادی است) نگهداری شدند (Iqbal and Bhanger, 2007) و پیشرفت اکسایش در روزهای صفر، ششم، دوازدهم، هجدهم و بیست و چهارم مورد ارزیابی قرار گرفت.

1- Total flavonoids content (TFC)
2- 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)
3- Reducing Power

جدول ۱- کد تیمارهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر
Table 1- Code of treatments studied in current research

کد Code	نمونه Sample
Control کنترل	روغن سویا بدون هر گونه افزودنی Soybean oil without any additives
so-200	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil
so-400	روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil
so-TBHQ	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ
so-MIX	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm synthetic antioxidant TBHQ

بررسی شاخص‌های پیشرفت اکسایش روغن سویا

اندازه‌گیری اسیدیته

به‌منظور بررسی خلوص، تازگی و درجه هیدرولیز، میزان اسیدیته روغن سویا مطابق با استاندارد AOCS به شماره Cd 3d-63 اندازه‌گیری شد (AOCS, 1990). به ۲۰ گرم از نمونه، ۱۲۵ میلی‌لیتر حلال (ایزوپروپیل الکل خالص+ تولوئن) خنثی شده با هیدروکسید پتاسیم استاندارد و معرف فنل فتالئین اضافه شد. محلول با هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ مولار در الکل ایزوپروپیل خالص تیتر شده و تیتراسیون تا ایجاد رنگ صورتی کم‌رنگ پایدار به مدت ۳۰ ثانیه ادامه یافت. میزان اسیدیته بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد.

$$Acidity\left(\frac{mgKOH}{g}\right)=\frac{(V\times C\times 56.1)}{W}$$ رابطه ۲

در این رابطه V، C و W به ترتیب نشان‌دهنده تفاضل هیدرواکسید پتاسیم مصرفی برای تیتراسیون نمونه و شاهد بر حسب میلی‌لیتر، غلظت هیدرواکسید پتاسیم بر حسب مول بر لیتر و وزن نمونه روغن بر حسب گرم می‌باشد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید[1]

به‌منظور ارزیابی محصولات اولیه اکسایش، عدد پراکسید به روش یدومتری و مطابق با استاندارد AOCS به شماره Cd 8-53 اندازه‌گیری شد (AOCS, 1990). بدین منظور پس از گرم شدن ۵ گرم از نمونه تا دمای ۴۰ درجه سلسیوس، ۳۰ میلی‌لیتر حلال (۳ قسمت استیک اسید +۲ قسمت کلروفرم) به آن اضافه گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه شد. پس از قرار گرفتن در مکان تاریک، طی یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر بدان اضافه شد و سپس با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد ید تیتر گردید. در نهایت ۰/۵ میلی‌لیتر معرف چسب نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید با استفاده از رابطه ۳ محاسبه و بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش شد.

$$PV\left(\frac{meq}{Kg}\right)=\frac{V\times N\times 1000}{m}$$ رابطه ۳

در این رابطه V، N و m به ترتیب حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی‌لیتر، نرمالیته تیوسولفات سدیم و جرم روغن سویا بر حسب گرم می باشد.

اندازه‌گیری عدد پارا-آنیزیدین[2]

عدد پارا-آنیزیدین طبق استاندارد AOAC به شماره Cd 18-90 به منظور سنجش محصولات ثانویه اکسایش اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۲ گرم نمونه روغن به داخل یک ارلن مایر ۲۵ میلی لیتری منتقل شد و با ایزواکتان به حجم رسید. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با یک میلی‌لیتر محلول پارا-آنیزیدین (۰/۲۵ درصد وزنی- حجمی) تهیه شده در استیک اسید مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در محل تاریک نگهداری شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. محلول شاهد که حاوی ۵ میلی‌لیتر ایزواکتان بود تحت شرایط مشابه اندازه‌گیری شد. عدد پارا-آنیزیدین با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد (AOAC, 1990).

$$p-AnV=\frac{25\times(1.2A_s-A_b)}{m}$$ رابطه۴

در این رابطه، A_s جذب روغن پس از واکنش با پارا- آنیزیدین ، A_b جذب نمونه شاهد و m وزن روغن بر حسب گرم است.

اندازه‌گیری عدد اکسایش کل (TOTOX[3])

1- Peroxide value (PV)
2- *p*-anisidine
3- Total oxidation value (TOTOX)

عدد توتوکس یا همان اکسایش کل که نشان‌دهنده مجموع محصولات اولیه و ثانویه اکسایش روغن می‌باشد بر اساس رابطه ۵ محاسبه شد (Nyam *et al.*, 2013).

رابطه ۵ $TOTOX = 2PV + p\text{-}AnV$

تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایشات پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA[1]) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون توکی[2] در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار MINITAB نسخه ۱۶ استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ رسم شدند. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام و داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی

بازده استخراج اسانس از اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی ۲/۵ درصد حجمی/وزنی بود در حالی‌که صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2016) میزان بازده استخراج اسانس از نمونه خشک شده در دمای محیط را ۰/۵ درصد وزنی/وزنی گزارش نمودند.

اسانس به دست آمده از اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی حاوی ۴۱ ترکیب بود که در مجموع ۹۶/۹۷٪ کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات شیمیایی شناسایی شده و مقادیر آنها در جدول ۲ آورده شده است و با نوع و مقادیر ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط ارائه شده توسط صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2016) مقایسه شد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی به ترتیب شامل Cyclofenchene (۲۱/۶۵٪)، Trans-β-Ocimene (۲۰/۱۰٪)، *O*-Cymene (۸/۸۸٪)، Bornyl Acetate (۷/۲۳٪)، Myrcene (۳/۷۵٪)، *Trans*-Verbenol (۳/۲۹٪)، β-Copaene-4α-ol (۳/۲۷٪)، Limonene (۲/۹۲٪)، γ-Terpinene (۲/۷۷٪) و β-Pinene (۲/۵۸٪) می‌باشد. این در حالی است در مطالعه صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2016) به طور کلی ۶۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که در مجموع ۹۶/۸۴٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند. لازم به ذکر است که ترکیب شیمیایی *Cis-Ocimene* (۳۰/۱۷٪) عمده ترین ترکیب شناسایی شده در اسانس چویر خشک شده در دمای محیط بود (Sadeghi *et al.*, 2016). همان طور که پیشتر نیز اشاره شده وجود تفاوت در ویژگی های کمی و کیفی اسانس به‌دست آمده از یک گیاه مشابه می‌تواند ناشی از تاثیر مکان جغرافیایی رویش، شرایط کاشت، داشت و برداشت، روش خشک کردن و روش استخراج اسانس باشد (Hassanpour aghdam *et al.*, 2010).

نتایج برخی از مطالعات نشان می‌دهند ترکیباتی نظیر γ-Terpinene، Myrcene، β-Pinene و Bornyl Acetate حتی در غلظت‌های اندک فعالیت ضد اکسایشی قابل قبولی دارند (Song *et al.*, 2001; Hosseini *et al.*, 2011). در این راستا فعالیت ضد باکتریایی Cyclofenchene، *O*-Cymene، Bornyl Acetate و β-Pinene به اثبات رسیده است (Haznedaroglu *et al.*, 2001; Darderafshi *et al.*, 2014; Shahbazi *et al.*, 2015).

ترکیبات زیست‌فعال نظیر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به‌عنوان جزئی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان نیز مسئول بروز ویژگی‌های ضد اکسایشی گیاهان هستند. سنجش محتوای کمی ترکیبات زیست فعال فنولی و فلاونوئیدی کل نشان داد که میزان محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی به ترتیب معادل ۱۸۸±۰/۲۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم اسانس و ۷۰/۹±۰/۰۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس می‌باشد. وجود ترکیبات ترپنوئیدی نظیر α-Pinene، Thymol، Trans-β-Ocimene، Terpinene-4-ol، Carvacrol و *O*-Cymene در اسانس اندام هوایی چویر که از جمله ترکیبات فنولی محسوب می‌شوند به‌عنوان عوامل اصلی ضد اکسایشی به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل قادر به واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسایش روغن‌های گیاهی غیر اشباع بوده و بدین ترتیب با خنثی سازی آنها سبب قطع واکنش‌های زنجیره‌ای و کاهش سرعت اکسایش می‌گردند (Dehghan *et al.*, 2019). در مطالعه‌ای هاشمی و همکاران (Hashemi *et al.*, 2015a) اذعان کردند وجود ترکیبات فنولی متعلق به مونوترپن‌ها نظیر (آلفا و بتا پینن، آلفاتوجن، دلتا ۳ کارن، پارا سیمن و ترپینن۴ ال) در اسانس گیاه باریجه مسئول بروز فعالیت ضد اکسایشی هستند.

فعالیت ضد اکسایشی اسانس اندام هوایی گیاه چویر خشک شده به روش انجمادی به دو روش سنجش قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و سنجش قدرت احیاء کنندگی اندازه‌گیری گردید. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که فعالیت اسانس چویر در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH وابسته به غلظت است چراکه با افزایش غلظت اسانس از ۱/۶ تا ۶/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان فعالیت مهار

1- Analysis of Variance

2- Tukey's test

کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH از ۲۱/۱۳ تا ۵۵/۴۵ درصد افزایش یافت. میزان فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی بر اساس IC_{50} برابر با ۵/۶۱۴±۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت ضد اکسایشی آنها نیز افزایش می‌یابد (Hashemi *et al*., 2015a, b).

جدول ۲- ترکیب شیمیایی اسانس به دست آمده از اندام هوایی خشک شده چویر به روش انجمادی

Table 2- Chemical composition of the essential oil obtained from the freezed-dried aerial parts of *F. angulata*

Compound ترکیب	**FD** خشک کردن انجمادی	**Ambient Temp.*** دمای محیط	**Compound** ترکیب	**FD** خشک کردن انجمادی	**Ambient Temp.*** دمای محیط
Cis-Ocimene	-	30.17	*β*-Bourbonene	-	0.28
Cyclofenchene	21.65	-	Myroxide	0.45	-
α-Pinene	0.31	15.4	tetrakis (1-methylethylidene)-	0.43	-
Trans-*β*-Ocimene	20.10	5.70	Linallol	0.44	0.26
γ-Terpinene	2.77	5.57	Neryl (S)-2-methylbutanoate	0.42	-
Germacrene-D	1.38	5.03	*β*-Cubenone	-	0.23
Limonene	2.92	4.88	α-Amorphene	-	0.22
O-Cymene	8.88	-	Terpinene-4-ol	0.29	0.17
Bornyl Acetate	7.23	4.57	*β*-Elemene	-	0.16
Trans-Verbenol	3.29	-	α-Cadinol	-	0.15
Myrcene	3.75	3.62	*β*-Bisabolene	-	0.14
β-Copaene-4α-ol	3.27	-	Borneol	0.57	0.14
β-Pinene	2.58	-	Epi-α-Cadinol	-	0.13
Camphene	1.69	2.41	*Cis*-Jasmone	-	0.12
ß-Ocimene	1.39	-	γ-Elemene	-	0.11
Noe-Allo-Ocimene	0.60	1.87	Cuparene	-	0.10
β-Phellandrene	-	1.84	α-Cadinene	-	0.10
α-Terpinolene	1.30	1.70	Ledene	-	0.09
Bicyclogermacrene	-	1.29	Thymol	0.18	-
δ-Cadinene	-	1.18	α-Terpineol	0.21	0.09
Verbenone	0.99	-	Tricyclene	-	0.09
δ-3-Carene	-	0.71	Verbenene	-	0.09
Germacrene-B	-	0.63	Palmitic acid	-	0.08
p-Menthane	0.85	-	Trans-Sabinene hydrate	1.93	0.07
p-Cymene	0.51	0.56	α-Muurolene	-	0.07
Viridiflorine	0.82	-	Pinocarvyl Acetate	0.36	0.06
Spathulenol	-	0.54	Iso-Spathulenol	-	0.06
α-Terpinene	-	0.53	α-Humulene	-	0.06
Cis-Verbenol	0.81	-	Butanoic Acid, 3- methyl	-	0.05
β-Cadinene	0.64	-	γ-Curcumene	-	0.05
α-Naginatene	0.57	-	Trans-*β*-Farnesene	-	0.05
α-Phellandrene	0.93	0.52	α-Cedrene	-	0.04
α-Acorenol	0.49	-	Elemo	-	0.03
α-Thujene	0.40	-	α- Campholeneal	-	0.03
α-Copaene	0.55	0.33	*p*-Cymene-8-ol	-	0.03
Geranyl Isovalerate	-	0.30	Geraniol	-	0.03
anthenyl *Cis*-Chrys propionate	0.28	-	Carvacrol	-	0.03
Italicene	0.23		α-Cubebene	-	0.03
Methyl Eugenol	0.21	0.30	Myrtenal	-	0.02
Trans-Caryophllene	0.30	0.28	Methyl cyclohexane	-	0.01
			Total identified (%)	96.97	96.84

*داده ها بر گرفته از منبع Sadeghi *et al*., 2016.

*Data adopted from Sadeghi *et al*., 2016.

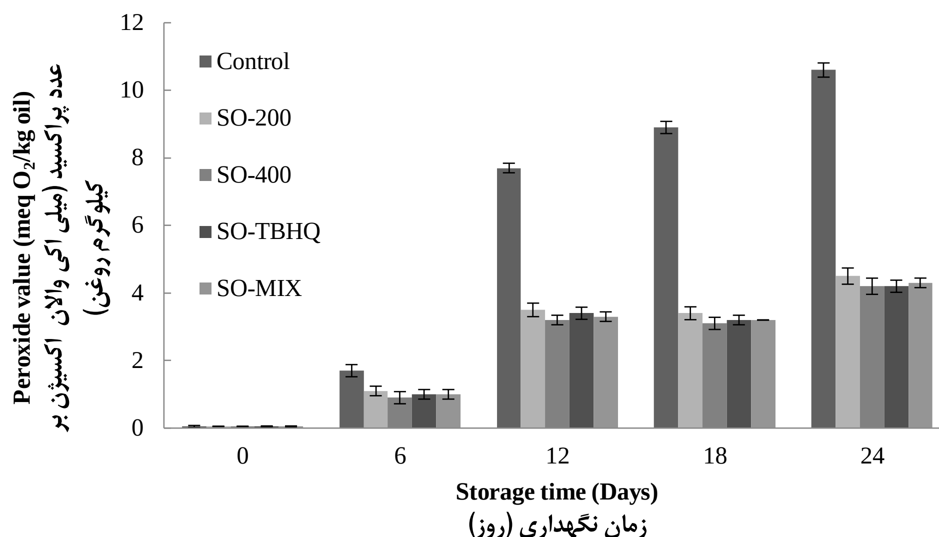
این امر می‌تواند ناشی از تاثیر افزایش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل باشد چرا که فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد به اثبات رسیده است (Samadloiy *et al*., 2008). همچنین افزایش فعالیت مهار کنندگی

رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش غلظت اسانس می‌تواند ناشی از افزایش شدت آزادسازی الکترون‌ها یا اتم‌های هیدروژن و انتقال آنها به رادیکال‌های DPPH باشد. میزان فعالیت احیاء کنندگی آهن اسانس چویر وابسته به غلظت و میزان جذب اسانس در طول موج ۷۰۰ نانومتر در محدوده ۲/۷۲–۳/۶۱ به‌دست آمد. روش احیاء آهن مبتنی بر قابلیت الکترون‌دهی یا همان نیروی احیاء کنندگی می‌باشد و این امر که با فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست فعال در ارتباط است می‌تواند مکانیسم تاثیر ترکیبات زیست فعال بر جلوگیری یا به تاخیر انداختن فرایند اکسایش را توجیه نماید (Mohammadi, and Arabshahi-Delouee, 2017).

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد پراکسید روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

پراکسیدها و هیدروپراکسیدها اولین محصولات فرایند اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها هستند که در مراحل انتهایی اکسایش به علت ناپایداری تجزیه شده و سبب تند شدگی[1] روغن‌ها می‌شوند (Dobarganes and Velasco, 2002). در نتیجه عدد پراکسید بالاتر نشان‌دهنده پایداری اکسایشی کم‌تر است. در مرحله آغاز اکسایش، میزان پراکسیدها و هیدروپراکسیدها اغلب کم است که با آغاز مرحله انتشار میزان آنها افزایش می‌یابد. تاثیر افزودن غلظت‌های مختلف اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ بر روی عدد پراکسید روغن سویا حین نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۱ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نگردید (p>۰/۰۵) هر چند اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) تیمارها با نمونه کنترل مشهود بود. بر اساس شکل ۱ وجود یک روند افزایشی در مقادیر عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها قابل مشاهده است که این افزایش به علت تشکیل هیدروپراکسیدها به‌عنوان محصولات اولیه اکسایش می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود روند افزایش عدد پراکسید حین دوره نگهداری تا روز ششم نگهداری آهسته بود و پس از آن تا روز دوازدهم با شیب تندتری افزایش یافت اما از روز دوازدهم تا پایان دوره نگهداری، عدد پراکسید با شیب ملایم‌تری افزایش یافت. عدد پراکسید روغن سویا در ابتدای دوره نگهداری معادل ۰/۰۵±۰/۰۲ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود که پس از ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده عدد پراکسید نمونه کنترل به میزان حداکثر ۱۰/۶±۰/۴۲ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن رسید در حالی‌که عدد پراکسید نمونه‌های so-200، so-400، so-TBHQ و so-MIX به‌ترتیب ۴/۵۰±۰/۴۰، ۴/۲۰±۰/۴۴، ۴/۲۰±۰/۲۸ و ۴/۳۰±۰/۱۴ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. در مقایسه با نمونه کنترل افزودن ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام از اسانس اندام هوایی چویر توانست به ترتیب به میزان ۵۷/۵۵ و ۶۰/۳۸ درصد از پیشرفت اکسایش جلوگیری نماید. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در محدوده غلظت اسانس مورد مطالعه هیچ اثر پراکسیدانی مشاهده نگردید که نشان از انتخاب صحیح سطوح غلظت‌های اسانس است. بیشتر اینکه افزودن مخلوط ضد اکساینده طبیعی و سنتزی (so-MIX) توانست به میزان ۵۹/۴۳ درصد از پیشرفت اکسایش روغن سویا جلوگیری نماید و هیچ گونه اثر سینرژیستی و یا آنتاگونیستی مشاهده نگردید. به‌طور کلی ممانعت از وقوع واکنش‌های اولیه اکسایش روغن‌ها توسط ترکیبات زیست‌فعال گیاهی به دلیل توانایی آنها برای اهداء الکترون یا قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط آنها می‌باشد. صادقی و همکاران (Sadeghi *et al*., 2016) در پژوهش مشابهی عدد پراکسید روغن سویا پایدار شده با اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط و در محدوده غلظت ۱۲۵– ۵۰۰ پی‌پی‌ام را ۶/۰۶–۷ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم در پایان دوره نگهداری گزارش کردند که در مقایسه با نتایج پژوهش حاضر اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی کارآیی بالاتری در پایداری روغن سویا دارد (Sadeghi *et al*., 2016). در این راستا دهقان و همکاران (Dehghan *et al*., 2019) با بررسی اثر افزودن اسانس پوست پرتقال بر پایدارسازی روغن سویا دریافتند که با افزایش غلظت اسانس از ۲ به ۵ درصد میزان عدد پراکسید کاهش یافت. این در حالی بود که با افزایش غلظت اسانس به ۲۰ درصد، با افزایش اثر پراکسیدانی، سرعت اکسایش روغن افزایش یافت (Dehghan *et al*., 2019). قزل سفلو و سیدالنگی (Ghezelsoflo and Sayyed-Alangi, 2017) در پژوهش مشابهی دریافتند غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس کرفس کوهی کارآیی مطلوبی در مهار اکسایش روغن سویا تحت شرایط تسریع شده دارد. کشوری فرد و همکاران (Keshvari Fard *et al*., 2020) گزارش کردند که افزودن اسانس نعناع فلفلی به روغن سویا تا غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سبب کاهش عدد پراکسید می‌شود ولی افزایش غلظت به بالاتر از این مقدار نتیجه معکوس داشته و به سبب پراکسیدانی عمل کردن اسانس نعناع فلفلی عدد پراکسید روغن سویا طی دوره نگهداری افزایش یافت (Keshvari Fard *et al*., 2020).

1- Rancidity



شکل ۱- عدد پراکسید روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز

Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

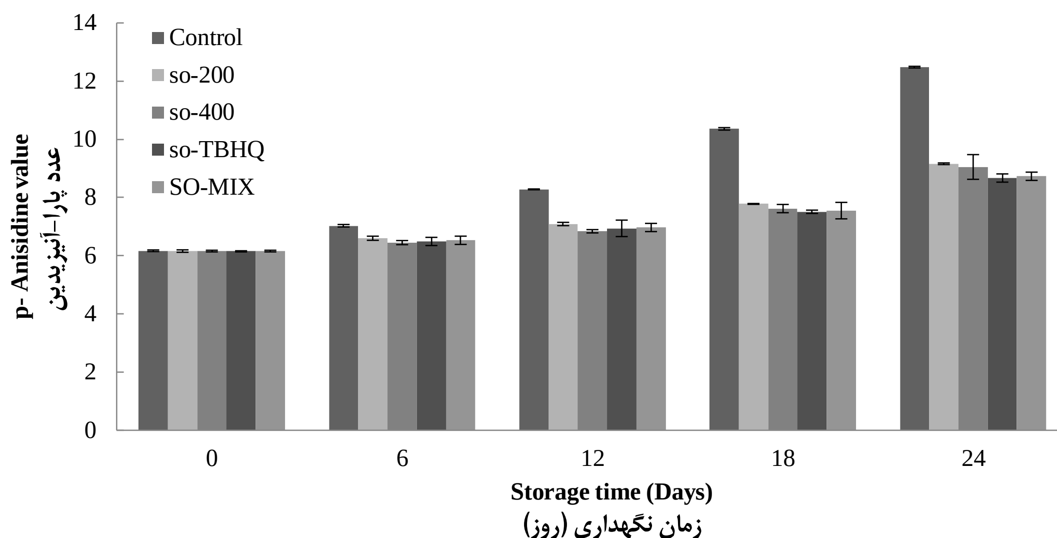
Figure 1- Peroxide value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

ترکیبات شیمیایی اکسیژن‌دار با وزن مولکولی پایین نظیر الکل‌ها، آلدهیدها، اسیدهای چرب آزاد و کتون‌ها از جمله ترکیباتی هستند که از تجزیه پراکسیدها و هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند (Pizarro *et al.*, 2013). عدد پارا-آنیزیدین به‌منظور سنجش میزان محصولات ثانویه اکسایش ناشی از تجزیه هیدروپراکسیدها اندازه‌گیری شد (Doleschall *et al.*, 2002). این آزمون بر اساس واکنش‌پذیری پیوند کربونیل آلدهید بر روی گروه آمین پارا-آنیزیدین است که منجر به تشکیل باز شیف می‌شود که حداکثر جذب را در طول موج ۳۵۰ نانومتر خواهد داشت (Ying *et al.*, 2010). بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، عدد پارا-آنیزیدین نمونه کنترل به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) بیشتر از سایر تیمارها بود. روند تغییرات عدد پارا-آنیزیدین در شکل ۲ نشان داده شده است. تشکیل محصولات ثانویه اکسایش حین دوره نگهداری تحت شرایط تسریع شده شبیه نتایج عدد پراکسید افزایش یافت. همان طور که ملاحظه می‌شود از روز ۱۲ نگهداری به بعد، عدد پارا-آنیزیدین نمونه کنترل با شدت بیشتری نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت. عدد اولیه پارا-آنیزیدین روغن سویا بدون هیچ گونه ترکیب ضد اکساینده ۰/۰۲±۶/۱۷ بود که در انتهای دوره نگهداری به مقدار ۰/۰۲± ۱۲/۴۸ افزایش یافت. در پایان دوره نگهداری، عدد پارا-آنیزیدین برای نمونه‌های so-200 و so-400 به ترتیب ۰/۰۳± ۹/۱۶ و ۰/۲۴± ۹/۰۵ به دست آمد (p>۰/۰۵) این در حالی است که عدد پارا-آنیزیدین برای نمونه‌های so-TBHQ و so-MIX به ترتیب ۰/۱۴±۸/۶۷ و ۰/۱۳±۸/۷۳ بود. ضد اکساینده سنتزی TBHQ بیشترین تاثیر را بر جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسایش داشت چرا که این ضد اکساینده سنتزی با داشتن دو گروه پارا-هیدروکسیل براحتی می‌تواند با اهداء اتم‌های هیدروژن به رادیکال‌های آزاد فعال سبب قطع زنجیره واکنش اکسایش رادیکالی شود (Jiang and Wang, 2006). نتایج به دست آمده حاکی از آن است که اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی در جلوگیری از محصولات ثانویه اکسایش نسبت به اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط کارآمدتر می باشد. صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2016) گزارش کردند که با افزودن اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط (محدوده غلظت اسانس ۱۲۵-۵۰۰ پی‌پی‌ام) عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا در پایان دوره نگهداری حداکثر به میزان حدودی ۲۰/۸۰ درصد نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت (Sadeghi *et al.*, 2016). این در حالی است که برای نمونه‌های so-200 و so-400 در مدت زمان مشابه می‌توان به‌ترتیب به ۲۶/۶۰ و ۲۷/۴۸ درصد کاهش در عدد پارا-آنیزیدین نسبت به نمونه کنترل دست یافت. همچنین مظاهری کلهرودی و همکاران (Kalahrodi *et al.*,

2014 در پژوهشی با هدف بررسی تاثیر افزودن اسانس دانه رازیانه بر پایداری اکسایشی روغن سویا دریافتند که با استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌توان به حداقل عدد پارا-آنیزیدین حین دوره نگهداری دست یافت (Kalahrodi *et al.*, 2014).



شکل ۲- عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲٤ روز

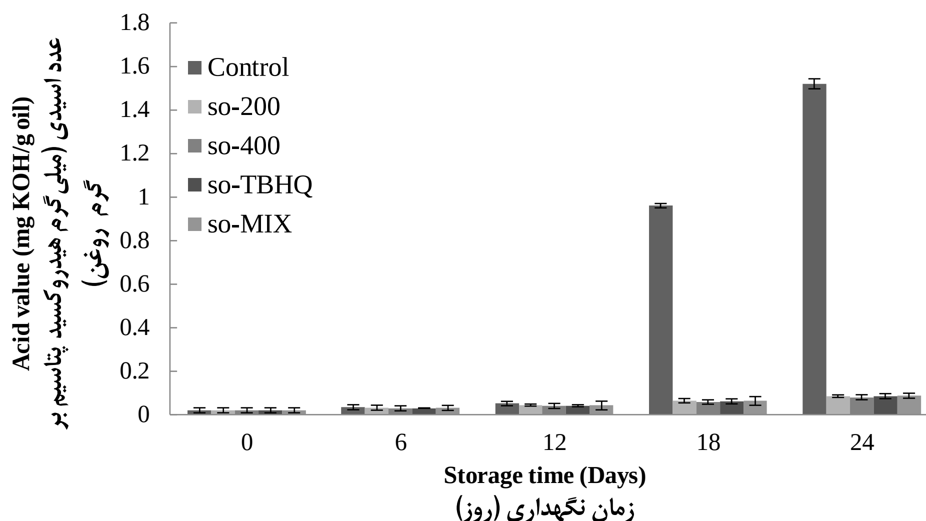
Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

Figure 2- *P*-anisidine value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد اسیدی روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

بررسی نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه بود ($p>۰/۰۵$) هر چند اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین تیمارهای مورد مطالعه با نمونه کنترل وجود داشت. روند تغییرات عدد اسیدی روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۳ تغییرات قابل ملاحظه‌ای تا روز ۱۲ نگهداری در عدد اسیدی روغن سویا مشاهده نشد اما از روز ۱۲ به بعد روند تغییرات عدد اسیدی با شدت بیشتری افزایش یافت. این در حالی است که تغییرات عدد اسیدی سایر نمونه‌های روغن سویا حاوی ضد اکساینده‌های طبیعی و سنتزی به‌طور یکسان و با شدت بسیار کمتری افزایش داشت. عدد پراکسید روغن سویا در روز اول نگهداری برابر با ۰/۰۲±۰/۰۱ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم بود که در انتهای دوره نگهداری عدد پراکسید نمونه کنترل به ۱/۵۲±۰/۲۳ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم رسید. افزایش عدد اسیدی به دلیل تبدیل ترکیبات ثانویه ناشی از اکسایش روغن و تبدیل آنها به اسیدهای کربوکسیلیک می‌باشد. افزودن ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس اندام هوایی چویر به روغن سویا در پایان دوره نگهداری توانست به ترتیب به میزان ۹۴/۴۱ و ۹۴/۷۴ درصد نسبت به نمونه کنترل از افزایش عدد اسیدی جلوگیری نماید. با توجه به نتایج به دست آمده با افزودن ۲۰۰ پی پی ام اسانس اندام هوایی چویر عدد اسیدی روغن سویا را در پایان دوره نگهداری می‌توان در حد ضد اکساینده سنتزی TBHQ حفظ کرد. نتایج سایر پژوهش‌ها حاکی از آن است که با افزودن عصاره گیاه نعناع پالژیوم به روغن کانولا تا غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام (Nasiri Takami *et al.*, 2015) و اسانس نعناع فلفلی به روغن سویا تا غلظت ۸۷۱ پی‌پی‌ام، می‌توان عدد اسیدی را در حد ضد اکساینده‌های سنتزی حفظ نمود (Keshvari Fard *et al.*, 2020).

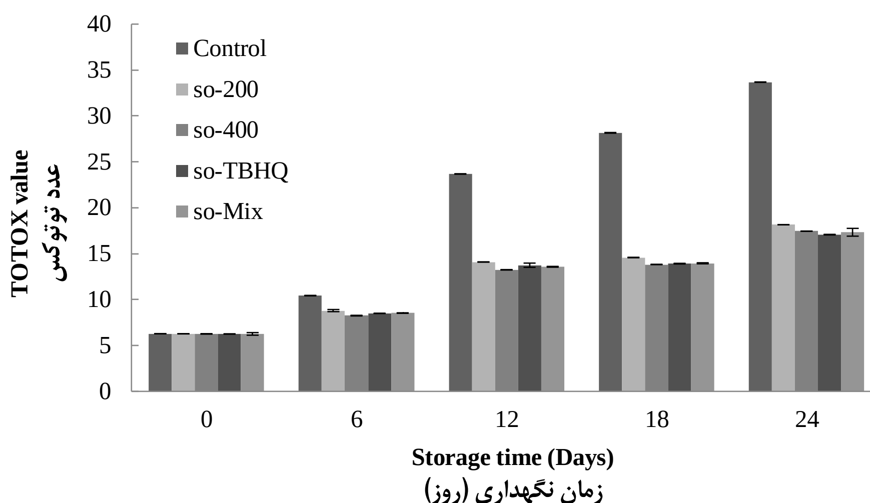


شکل ۳- عدد اسیدی روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز

Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ

Figure 3- Acid value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.



شکل ٤- عدد توتوکس روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲٤ روز

Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، **so-200**: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ

Figure 4- TOTOX value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد توتوکس روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

عدد اکسایش کل یا توتوکس روغن سویا بر اساس عدد پراکسید و عدد پارا-آنیزیدین به‌عنوان محصولات اولیه و ثانویه اکسایش روغن محاسبه شد بنابراین نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده مراحل اولیه و ثانویه اکسایش و یا به عبارتی نشان‌دهنده روند فساد اکسیداتیو در روغن خواهند بود (O'Keefe and Pike, 2010). بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت (p>۰/۰۵) هر چند تیمارهای مورد مطالعه با نمونه کنترل اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) داشتند. روند تغییرات عدد توتوکس روغن سویا طی ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۴ نشان داده شده است. در پایان دوره نگهداری عدد توتوکس در نمونه کنترل روغن سویا به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) بالاتر از نمونه‌های روغن سویا حاوی ترکیبات ضد اکساینده بود. کاهش عدد توتوکس با افزودن اسانس اندام هوایی چویر می‌تواند به دلیل کارآیی آن در به تاخیر انداختن تشکیل هیدروپراکسیدها باشد. مظاهری کلهرودی و همکاران (Kalahrodi *et al*., 2014) دریافتند با افزودن ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس دانه رازیانه می‌توان به بالاترین میزان جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسایش در روغن سویا دست یافت.

نتیجه‌گیری

پایداری اکسایشی روغن‌های گیاهی حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر روغن سویا مشکل است. یافتن جایگزین طبیعی برای ضد اکساینده‌های سنتزی که برای رفع مشکل عدم پایداری روغن‌های غیر اشباع بکار می‌روند از چالش‌های مهم در این زمینه محسوب می‌شود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر اسانس اندام هوایی چویر با حداقل غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام توانست با موفقیت پیشرفت اکسایش روغن سویا را حین دوره نگهداری به تاخیر بیاندازد. هیچ گونه اثر سینرژیستی و یا آنتاگونیستی با افزودن مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ بر پایداری اکسایشی روغن سویا مشاهده نگردید. در نتیجه اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی را می‌توان به‌عنوان جایگزین طبیعی ضد اکساینده سنتزی TBHQ برای پایدارسازی روغن سویا پیشنهاد نمود.

منابع

1. Ai-li, J., & Chang-hai, W. (2006). Antioxidant properties of natural components from *Salvia plebeia* on oxidative stability of ascidian oil. *Process Biochemistry*, *41*, 1111–1116 https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.001
2. AOCS, Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists' Society Edited by David Firestone, (1990). Washington, DC, USA.
3. Azarbani, F., Saki, Z., Zareei, A., & Mohammadi, A. (2014). Phenolic content, antibacterial and antioxidant activities of flower, leaf and stem extracts of *ferulago angulata* (schlecht.) boiss. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*(10), 123–125.
4. Chen, X.Q., Zhang, Y., Zu, Y.G., Yang, L., Lu, Q., & Wang, W. (2014). Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, *49*, 385–391. https://doi.org/10.1111/ijfs.12311
5. Darderafshi, M.J., Bahrami, G.H., Sadeghi, E., Khanahmadi, M., Mohammadi, M., & Mohammadi, R. (2014). The effect of *Ferulago angulata* essential oil on *Staphylococcus aureus* during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, *8*(4), 13-20. http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-1493-en.html
6. Dobarganes, M.C., & Velasco, J. (2002). Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *104*, 420–428. https://doi.org/10.1002/1438-9312(200207)104:7<420::AID-EJLT420>3.0.CO;2-N
7. Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2019). Investigate the antioxidant properties of orange peel essential oil (*Citrus sinesis*) on the stability of soybean oil during storage conditions. *Food Technology and Nutrition*, *16*(3), 73-91.
8. Doleschall, F., Kemeny, Z., Recseg, K., & Kovari, K. (2002). A new analytical method to monitor lipid peroxidation during bleaching. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *104*, 14–18. https://doi.org/10.1002/1438-9312(200201)104:1<14::AID-EJLT14>3.0.CO;2-J
9. Eghbalian Rad, M., Sari, A.A., & Daraei Garmakhany, A. (2018). Thermal stability optimization of the Soybean oil affected by *Thymus daenensis Celak* essential oil by use of response surface methodology. *Journal of Food Hygiene*, *8*(32), 77-107.
10. Ghasemi Pirbalouti, A., Sedaghat, L., Hamedi, B., & Tirgir, F. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of three endemic medicinal plants of Iran. *Bangladesh Journal of Botany*, *42*, 327–332. https://doi.org/10.3329/bjb.v42i2.18038

11. Ghezelsoflo, M., & Sayyed-Alangi, S.Z. (2017). Effect of *Kelussia Odoratissima* Mozaffarian leaves essential oil on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Research*, *26*(4), 681-694.
12. Hashemi, Z., Hojjati, M., & Tahanejad, M. (2015a). Evaluation of antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss essential oil in frying oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *11*(5), 631-642.
13. Hashemi, Z., Hojjati, M., & Tahanejad, M. (2015b). Evaluation of antioxidant activity of essential oil from *Citrus aurantium* leaf compared with TBHQ in edible oil. *Innovative Food Technologies*, *2*(2), 43-57.
14. Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L., & Farsad-Akhtar, N. (2010). Drying method affects essential oil content and composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *13*(6), 759-766. https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643892
15. Haznedaroglu, M.Z., Karabay, N.U., & Zeybek, U. (2001). Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia*, *72*(7), 829-831. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00335-5
16. Hemmati, A., Ganjloo, A., Varmira, K., & Bimakr, M. (2021). Influence of different drying methods on extraction yield, chemical compositions, total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of essential oil from aerial parts of *Ferulago angulata* Boiss. *FSCT*, *18*(117), 119-132. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-51504-en.html
17. Hosseini, N., Salehi Arjmand, H., Malekirad, A.A., & Akramian, M. (2011). *Variation in the essential oil content and composition of flowers of Ferulago angulata (Schlecht.) Bioss. populations growing wild in Iran*: In 42nd International Symposium on Essential Oils.
18. Iqbal, S., & Bhanger, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, *100*, 246-254. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.049
19. Jeong, S., Kim, S., Kim, D., Jo, S., Nam, K., Ahn, D., & Lee, S. (2004). Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts of citrus peels. *Food Chemistry*, *52*, 3389–3393. https://doi.org/10.1021/jf049899k
20. Kanner, J., Gorelik, S., Roman, S., & Kohen, R. (2012). Protection by polyphenols of post prandial human plasma and low density lipoprotein modification: The stomach as a bioreactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(36), 8790–8796. https://doi.org/10.1021/jf300193g
21. Keshvari Fard, F., Mokhtarian, M., & Tavakolipour, H. (2020). Evaluation of the effects of peppermint essential oil (*Mentha piperita*) on oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, *12*(1), 81-94. https://doi.org/10.22069/EJFPP.2020.14431.1463
22. Kozłowska, M., & Gruczyńska, E. (2018). Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. *Chemical Papers*, *72*, 2607–2615. https://doi.org/10.1007/s11696-018-0516-5
23. Mazaheri Kalahrodi, M., Bassiri, A., & Jalali, H. (2014). Evaluation of antioxidant properties of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare*) and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, *45*(2), 131-139. https://doi.org/10.22059/IJBSE.2014.52641
24. Moghaddam, M., Mehdizadeh, L., Mirzaei Najafgholi, H., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2018). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of seed essential oil of *Ferulago angulata*. *International Journal of Food Properties*, *21*(1), 158–170. https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1437626
25. Mohammadi, A., & Arabshahi-Delouee, S. (2017). Evaluation of active components and antioxidant activity of essential oil of *Boswellia serrata*. *JFST*, *14*(63), 107-117. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-100-en.html
26. Mozafarian, V. (1983). The family of umbelliferae in Iran, key and distribution. Research Institute and Ranglands, Tehran, Iran, *35*, 387.
27. Mozafarian V. (2008). *Encyclopedia of Iranian plants*. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publisher.
28. Mollaei, S., Sedighi, F., Habibi, B., Hazrati, S., & Asgharian, P. (2019). Extraction of essential oils of *Ferulago angulata* with microwave-assisted hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, *137*, 43–51. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.015
29. Nasiri Takami, S.T. (2015). The antioxidant effect of *mentha pulegium* extracts on the stability of canola oil during storage conditions. *Journal of Applied Environment and Biological Science*, *4*(11), 112-117.
30. Nyam, K.L., Wong, M.M., Long, K., & Tan, C.P. (2013). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with kenaf seed extract, roselle seed extract and roselle extract, respectively under accelerated storage. *International Food Research Journal*, *20*(2), 695–701.
31. O'Keefe, S.F., & Pike, O.A. (2010). *Fat characterization* In: S.S.Nielsen. (Ed.), Food Analysis (4th ed.). New York, NY, USA: Springer Science and Business Media.
32. Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, *44*(6), 307–315.
33. Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J.M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, *46*, 3227–3239. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.024

34. Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., & González-Sáiz, J.M. (2013). Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalization of predictors to mid-infrared spectra. *Food Control*, *34*, 158–167. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.025
35. Ghasempour, H.R., Shirinpour, E., & Heidari, H. (2007). Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of essential oil from seeds and aerial parts of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss gathered in Nevakoh and Shahoo, Zagross Mountain, West of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*(5), 814-817. https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.814.817
36. Sadeghi, E., Mahtabani, A., Etminan, A., & Karami, F. (2016). Stabilization of soybean oil during accelerated storage by essential oil of *ferulago angulata* boiss. *Journal of Food Science and Technology*, *53*(2), 1199–1204. https://doi.org/10.1007/s13197-015-2078-7
37. Samadloiy, H.R., Azizi, M.H., & Barzegar, M. (2008). Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component, *Journal of Food Scientist Technology*, *45*, 190-192.
38. Shahbazi, Y., Shavisi, N., Karami, N., & Kakaei, S. (2015). Chemical composition and *in Vitro* antibacterial activity of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil. *Pharmaceutical Sciences*, *21*, 6-11. https://doi.org/10.15171/PS.2015.10
39. Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of Drum sticktree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Food Chemistry*, *51*, 4113–4117. https://doi.org/10.1021/jf020444+
40. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungestic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144–158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144
41. Song, H.S., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2001). Antioxidative activities of Citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Science and Technoogy. Research*, *7*, 50–56. https://doi.org/10.3136/fstr.7.50
42. Taran, M., Ghasempour, H.R., & Shirinpour, E. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *ferulago angulata* subsp. *Carduchorum*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *3*(1), 10-14.
43. Xie, J.H., Shen, M.Y., Xie, M., Nie, S., Chen, Y., & Li, C. (2012). Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, *89*, 177–184. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.068
44. Yim, H.S., Chye, F.Y., Liow, M.L., & Ho, C.W. (2013). Antioxidant potential of *Pleurotus porrigens* extract and application in sunflower oil during accelerated storage. *Chiang Mai Journal of Science*, *40*(1), 34-48.
45. Ying, Z., Lei, Y., Yuangang, Z., Xiaoqiang, C., Fuji, W., & Fang, L. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, *118*, 656–662. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.038
46. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*, 555-559. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2